



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

**Учредитель**

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

**Издатель**

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

[www.iacsmac.ru](http://www.iacsmac.ru)

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

**Подписные индексы**

По каталогу «Журналы России» на 2020 г. агентства «Роспечать»:

**82125** – для индивидуальных подписчиков;

**82126** – для организаций.

**Подписка на сайте издателя**

<https://service.iacsmac.ru>

**Адрес для корреспонденции**

214019, г. Смоленск, а/я 5.  
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:  
[cmac@antibiotic.ru](mailto:cmac@antibiotic.ru)

Электронная версия журнала:  
[www.cmac-journal.ru](http://www.cmac-journal.ru)

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук. Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2020.

## Содержание

- Зайцев А.А.  
84 Письмо в редакцию

### Болезни и возбудители

- Зайцев А.А., Голухова Е.З., Мамалыга М.Л., Чернов С.А., Рыбка М.М., Крюков Е.В., Ключников И.В., Семенов В.Ю., Орлов И.Н.  
88 Эффективность пульс-терапии метилпреднизолоном у пациентов с COVID-19
- Миронов К.О., Ярыгина Е.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В.  
92 Генетическая характеристика *Neisseria meningitidis*, выделенных от больных генерализованными формами менингококковой инфекции на территории Смоленской области

### Антимикробные препараты

- Веселов А.В.  
96 Таблетированная форма позаконазола: клиническая фармакология и актуальные данные практического применения в онкогематологии
- Дехнич Н.Н., Тряпышко А.А., Трушин И.В., Кузьменков А.Ю., Козлов Р.С.  
119 Нифурател в эрадикации инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых: результаты рандомизированного, сравнительного клинического исследования
- Тапальский Д.В., Петровская Т.А., Козлова А.И., Эйдельштейн М.В.  
128 Потенцирование антибактериальной активности колистина в отношении множественно- и экстремально-резистентных клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* антибиотиками разных групп

### Антибиотикорезистентность

- Виноградова А.Г., Кузьменков А.Ю.  
137 Организация данных как основа локального мониторинга антибиотикорезистентности
- Куцевалова О.Ю., Козель Ю.Ю., Розенко Д.А., Мартынов Д.В., Коршункова О.В.  
143 Анализ антибиотикорезистентности основных грамотрицательных патогенов в стационарах Ростова-на-Дону и области

### Опыт работы

- Жаркова Л.П., Кречикова О.И., Чагарян А.Н., Козлов Р.С.  
149 Носительство *Streptococcus pneumoniae* среди организованных детей города Смоленска
- Буркальцева М.В., Лазарева А.В., Плетенева Е.А., Шабурова О.В., Крылов С.В., Михайлова Н.А., Поддубиков А.В., Лазарев С.А., Зверев В.В., Крылов В.Н.  
155 Визуализация взаимодействий бактерий разных видов, коинфицирующих легкие при муковисцидозе

## Генетическая характеристика *Neisseria meningitidis*, выделенных от больных генерализованными формами менингококковой инфекции на территории Смоленской области

Миронов К.О.<sup>1</sup>, Ярыгина Е.А.<sup>1</sup>, Чагарян А.Н.<sup>2</sup>, Иванчик Н.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

<sup>2</sup> НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

Контактный адрес:

Константин Олегович Миронов  
Эл. почта: mironov@pcr.ru

Ключевые слова: генерализованные формы менингококковой инфекции, *Neisseria meningitidis*, мультилокусное секвенирование-типирование, клональный комплекс.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

**Цель.** Антигенная и генетическая характеристика *Neisseria meningitidis*, выделенных от больных генерализованными формами менингококковой инфекции на территории Смоленской области, в сопоставлении с менингококками, циркулирующими на других территориях.

**Материалы и методы.** Методом мультилокусного секвенирования-типирования в сочетании с антигенной характеристикой трех переменных фрагментов белков наружной мембраны исследовано 14 образцов спинномозговой жидкости, полученных в 2016–2019 гг. и содержащих ДНК *N. meningitidis* (использовался набор АмплиСенс® Nm-ABCW). Результаты проанализированы с использованием алгоритма кластеризации BURST и программных возможностей интернет-ресурса PubMLST.org (Jolley K. и соавт. 2018).

**Результаты.** Определены аллели, сиквенс-типы и клональные комплексы для возбудителей, содержащихся в исследованных биологических образцах. Результаты генотипирования опубликованы в базе данных PubMLST (<https://pubmlst.org/neisseria/>). Большинство *N. meningitidis* серогруппы B (n = 6) имеют ранее не описанные сиквенс-типы: ST-14705, ST-14710, ST-14711, ST-14713 и ST-14717; серогруппы C (n = 7) – сиквенс-типы, характерные для штаммов, циркулирующих на территории России, при этом 4 из них имеют сиквенс-тип ST-8416; серогруппы Y (n = 1) – сиквенс-тип ST-11585.

**Выводы.** Анализ полученных данных демонстрирует принадлежность большинства найденных сиквенс-типов клональным комплексам и группам генетически близких изолятов, описанным ранее и характерным для *N. meningitidis*, циркулирующих на территории России. Выявленные антигенные и генетические характеристики не позволяют говорить о циркуляции на наблюдаемой территории эпидемически опасных штаммов *N. meningitidis* или штаммов с повышенными вирулентными свойствами.

Original Article

## The genetic characteristics of *Neisseria meningitidis* causing invasive meningococcal infections in Smolensk region

Mironov K.O.<sup>1</sup>, Yarygina E.A.<sup>1</sup>, Chagaryan A.N.<sup>2</sup>, Ivanchik N.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

Contacts:

Konstantin O. Mironov  
E-mail: mironov@pcr.ru

Key words: invasive meningococcal infection, *Neisseria meningitidis*, multilocus sequence typing, clonal complex.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

**Objective.** To determine antigenic and genetic characteristics of *Neisseria meningitidis* isolated from the patients with invasive meningococcal infections in Smolensk region in comparison with those circulating in other regions.

**Materials and methods.** A total of 14 cerebrospinal fluid samples obtained in 2016–2019 and containing *N. meningitidis* DNA were tested using AmpliSens® Nm-ABCW kit, multilocus sequence typing and antigenic finetyping of outer membrane proteins. The results were analyzed by the BURST algorithm and other functionalities available at PubMLST.org (Jolley K. et al. 2018).

**Results.** The variable region alleles, sequence types and clonal complexes were determined for the tested isolates. The genotyping results were published in the PubMLST database (<https://pubmlst.org/neisseria/>). Most of *N. meningitidis* serogroup B isolates (n = 6) belonged to sequence types which have not been described previously: ST-14705, ST-14710, ST-14711, ST-14713 and ST-14717. Sequence types of serogroup C isolates (n = 7) were usual for strains circulating in other Russian regions (4 of 7 belonged to ST-8416). The only serogroup Y isolate belonged to ST-11585.

**Conclusions.** Most studied *N. meningitidis* sequence types belonged to clonal complexes designated in PubMLST database and groups of isolates, determined by the BURST algorithm, which were usual for Russian regions. The antigenic and genetic characteristics suggest no circulation of epidemiologically significant *N. meningitidis* strains or hypervirulent strains on the observed territory.

## Введение

Генерализованные формы менингококковой инфекции (ГФМИ) – опасные инфекционные состояния с высокими показателями летальности [1, 2]. Несмотря на то что заболеваемость ГФМИ с 2015 г. не превышает 0,6 случаев на 100 тыс. [3], проведение эпидемиологического надзора является важной задачей, направленной на предотвращение эпидемических вспышек, в том числе за счет своевременного выявления гипервирулентных возбудителей [1, 2]. В связи с этим мониторинг антигенных и генетических свойств возбудителя ГФМИ – *Neisseria meningitidis* – выступает важным элементом системы эпидемиологического надзора.

На территории России ГФМИ вызываются *N. meningitidis* серогрупп А, В, С и W [1, 3, 4]. Информация о серогрупповом составе менингококков, вызывающих ГФМИ, необходима как для наблюдения за циркулирующими штаммами *N. meningitidis*, так и для практического планирования иммунопрофилактических мероприятий. В то же время серогруппирование не обладает достаточной дискриминирующей способностью для определения гипервирулентных штаммов, которые могут относиться к одинаковой серогруппе. Для классификации, «эпидемиологической маркировки» и наблюдения за эволюционными процессами в бактериальной популяции используются методы внутривидовой характеристики, среди которых в последнее время наибольшее распространение получило мультилокусное секвенирование-типирование (МЛСТ) в сочетании с характеристикой переменных фрагментов белков наружной мембраны [2, 5]. Результаты МЛСТ могут быть опубликованы в общедоступной базе данных PubMLST, что позволяет оперативно анализировать антигенные и генетические особенности возбудителя ГФМИ, выделяемого на разных территориях в определенный период времени [6]. Ранее нами были проанализированы генетические особенности менингококков, вызывающих ГФМИ в России [5, 7].

**Цель** данного исследования – характеристика *N. meningitidis*, выделенных от больных ГФМИ на территории Смоленской области, в сопоставлении с возбудителями, циркулирующими на других территориях.

## Материалы и методы

Проведена антигенная и генетическая характеристика 14 образцов спинномозговой жидкости, содержащих ДНК *N. meningitidis*, полученных от больных ГФМИ на территории Смоленской области. Антигенная характеристика заключалась в определении серогрупп с использованием набора реагентов АмплиСенс® NmABCW-FL и аллелей трех переменных фрагментов белков наружной мембраны PorA и FetA. Генетическая характеристика проведена методом МЛСТ в соответствии с международными требованиями (<https://pubmlst.org/neisseria/info/>) [2, 6] с помощью молекулярно-биологических методик, разработанных в Центральном НИИ эпидемиологии [5]. Секвенирование проводилось с использованием реагентов и оборудования компании Applied Biosystems (США). Для анализа результатов МЛСТ использовался алгоритм кластеризации BURST и

программные возможности интернет-ресурса PubMLST.org [2, 6, 8]. Клональные комплексы *N. meningitidis* обозначались согласно [9].

## Результаты и обсуждение

Определены антигенные и генетические характеристики исследованных менингококков, вызывающих ГФМИ. Полученные результаты в совокупности с информацией об источнике возбудителя опубликованы в базе данных PubMLST. Характеристики изученных изолятов *N. meningitidis* и их идентификационные номера (id) в базе данных PubMLST представлены в Таблице 1.

Антигенные характеристики удалось определить у всех исследованных изолятов *N. meningitidis*, за исключением одного образца (id91582), для которого продукт амплификации фрагмента гена *porA* с использованием нескольких альтернативных, в том числе рекомендованных [2], методик и их комбинаций получить не удалось. Отсутствие продукта амплификации позволяет предположить наличие делеции соответствующего фрагмента в геноме данного штамма; отсутствие экспрессии белка PorA у *N. meningitidis* – нечастое, но описанное явление [2]. Остальные аллели переменных фрагментов белков наружной мембраны, представленные в Таблице 1, в целом характерны как для представителей серогрупп В и С, так и для штаммов *N. meningitidis* этих серогрупп, циркулирующих на территории России (см. базу данных PubMLST).

У большинства исследованных *N. meningitidis* серогруппы В найдены не описанные ранее сиквенс-типы: ST-14705, ST-14711 и ST-14717 образованы ранее не встречавшимися комбинациями аллелей; ST-14710 и ST-14713 определены за счет впервые выявленных аллелей *abcZ-1073*, *gdh-1105* и *pdhC-1050*. У *N. meningitidis* серогруппы С найдены сиквенс-типы, характерные для штаммов, циркулирующих на территории России (см. базу данных PubMLST).

Анализ данных с помощью алгоритма кластеризации BURST [2, 8] всех российских изолятов, содержащихся в базе данных PubMLST, с известной серогруппой, исключая изоляты серогруппы А (на момент окончания исследования таких изолятов было 221), позволяет классифицировать российские *N. meningitidis* по 12 группам. Наибольшее количество изолятов входят в 5 групп, из которых 3 группы соответствуют основным клональным комплексам *N. meningitidis* серогрупп В, С и W, циркулирующим на территории России: ST-41/44 complex/Lineage 3, ST-18 complex и ST-11 complex/ET-37 complex. Подробнее эти клональные комплексы и их роль в эпидемическом процессе описаны ранее [5, 7]. Помимо клональных комплексов, указанных в базе данных PubMLST [9], среди российских менингококков, вызывающих ГФМИ, можно выделить 2 группы генетически близких изолятов, обозначенных ранее как «ссST-8499» и «ссST-10033» [5, 7] (в названиях групп отражены сиквенс-типы, объединяющие максимальное количество сиквенс-типов на основании анализа совпадений определенных аллелей в аллельных профилях).

Таблица 1. Антигенные и генетические характеристики менингококков, вызывающих ГФМИ

id*	Год	Серогруппа	PorA VR1	PorA VR2	FetA VR	Сиквенс-тип**	Клональный комплекс***
91573	2016	B	5-1	10-1	F1-14	<b>14705</b>	–
91574	2016	B	12-1	13-1	F4-1	<b>14710</b>	–
91575	2016	B	5-3	2-16	F3-9	<b>14711</b>	«ST-8499»
91577	2017	B	5-1	10-4	F3-6	<b>14713</b>	–
91580	2017	B	5-1	2-90	F5-2	<b>14717</b>	ST-103 complex
91543	2019	B	5-3	2-16	F3-9	8499	«ST-8499»
54719	2016	C	17	16-4	F3-9	3346	ST-41/44 complex
91576	2016	C	17	16-4	F3-9	3346	ST-41/44 complex
91578	2017	C	5-2	10-1	F1-7	8416	–
91579	2017	C	5-2	10-1	F1-7	8416	–
91581	2018	C	17	16-4	F3-9	3346	ST-41/44 complex
91582	2019	C	Δ	Δ	F1-7	8416	–
91583	2019	C	5-2	10-1	F3-6	8416	–
91572	2019	Y	5-3	10-4	F3-6	11585	«ST-10033»

\* Идентификационные номера в базе данных PubMLST.

\*\* Жирным шрифтом выделены сиквенс-типы, впервые найденные в данном исследовании.

\*\*\* Группы генетически близких изолятов «ST-8499» и «ST-10033» не являются клональными комплексами, обозначаемыми для *N. meningitidis* согласно [9].

Группа «ссST-8499» включает *N. meningitidis* серогрупп В и С, группа «ссST-10033» представлена преимущественно *N. meningitidis* серогрупп Y и W.

Определенные антигенные и генетические характеристики исследованных менингококков демонстрируют отсутствие циркуляции на наблюдаемой территории известных гипервирулентных (ассоциированных с подъемом заболеваемости) штаммов *N. meningitidis*, вызывающих ГФМИ. Анализ полученных данных демонстрирует принадлежность большинства найденных сиквенс-типов группам (клональным комплексам и группам генетически близких изолятов), описанным ранее и характерным для циркулирующих на территории России *N. meningitidis*. Полученные данные подтверждают ранее сделанный вывод о том, что для российских *N. meningitidis* серогрупп В и С характерен интенсивный рекомбинационный

процесс, наблюдаемый в пределах уже известных групп [5, 7]. Особенностью изученной выборки штаммов является относительно высокая доля *N. meningitidis* серогруппы С, имеющих сиквенс-тип ST-8416 (4 из 7), который не удается отнести к какой-либо группе, выделяемой с помощью алгоритма кластеризации BURST. Найденные сиквенс-типы и аллели вариабельных фрагментов белков наружной мембраны в целом характерны для менингококков, циркулирующих в текущий межэпидемический период. Представленные в Таблице 1 сиквенс-типы, а также отсутствие преобладающих генотипов у исследованных штаммов не позволяют говорить о возможном ухудшении на наблюдаемой территории эпидемиологической ситуации по ГФМИ, обусловленной циркуляцией штаммов *N. meningitidis* с повышенными вирулентными свойствами.

## Литература

1. Pokrovskiy V.I., Favorova L.A., Kostyukova N.N. Meningococcal infection. М.: Meditsina, 1976. 275 p. Russian. (Покровский В.И., Фаворова Л.А., Костюкова Н.Н. Менингококковая инфекция. М.: Медицина, 1976. 275 с.)
2. Meningococcal disease: methods and protocols. Editors: Pollard, Andrew J., Maiden, Martin C.J. (Eds.). Humana Press Inc.; 2001. 721 p.
3. Meningococcal disease and purulent bacterial meningitis in Russian Federation, 2017. Information and analytical review. М.: 2018. 40 p. Russian. (Менингококковая инфекция и гнойные бактериальные менингиты в Российской Федерации, 2017. Информационно-аналитический обзор. М.: 2018. 40 с.)
4. Mironov K.O., Platonov A.E., Dribnokhodova O.P., Kuseva V.I., Shipulin G.A. A method for determination of *Neisseria meningitidis* serogroup A, B, C and W by real-time PCR. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii. 2014;6:35-42. Russian. (Миронов К.О., Платонов А.Е., Дрибноходова О.П., Кусева В.И., Шипулин Г.А. Методика для определения серогрупп А, В, С и W *Neisseria meningitidis* методом ПЦР в режиме реального времени. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2014;6:35-42.)
5. Mironov K.O. Clonal complex of *Neisseria meningitidis*, circulating in the regions of Russia and their role in epidemic process of meningococcal infection. Epidemiologija i infektionnye bolezni.

- Aktual'nye voprosy. 2016;6:52-61. Russian. (Миронов К.О. Клональные комплексы *Neisseria meningitidis*, циркулирующие на территории России, и их роль в эпидемическом процессе менингококковой инфекции. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2016;6:52-61.)
6. Jolley K.A., Bray J.E., Maiden M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. Wellcome Open Res. 2018;3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
  7. Mironov K.O. Experience of the use of molecular and biological monitoring in the epidemiological surveillance of meningococcal infection in Russia. Epidemiologija i infekcionnye bolezni. Aktual'nye voprosy. 2019;1:93-99. Russian. (Миронов К.О. Опыт использования молекулярно-биологического мониторинга в эпидемиологическом надзоре за менингококковой инфекцией в России. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2019;1:93-99.) DOI: 10.18565/epidem.2019.1.93-99
  8. Feil E.J., Li B.C., Aanensen D.M., Hanage W.P., Spratt B.G. eBURST: Inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. J Bacteriol. 2004;186(5):1518-1530. DOI: 10.1128/JB.186.5.1518-1530.2004
  9. Clonal complex designation of *Neisseria*. Available at: <https://pubmlst.org/neisseria/info/complexes.shtml>. Accessed December 2019.